

## ウリ科食性甲虫類の寄生選択に関する研究

著者	阿部 誠
号	604
発行年	1999
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/17044">http://hdl.handle.net/10097/17044</a>

氏 名(本籍)	あ 阿	べ 部	まこと 誠
学 位 の 種 類	博	士	(農 学)
学 位 記 番 号	農	博	第 6 0 4 号
学位授与年月日	平	成	12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研 究 科 専 攻	東北大学大学院農学研究科農学専攻 (博士課程)		
学位論文題目	ウリ科食性甲虫類の寄生選択に関する研究		
論文審査委員	(主 査)	教 授	松 田 一 寛
		教 授	江 原 淑 夫
		教 授	大久保 一 良

# 論文内容要旨

## 第1章 緒言

食植性昆虫の寄主選択には様々な因子が関わっているが、中でも寄主植物の化学成分が重要な役割を果たしており、食植性昆虫は植物に存在する化学物質を感知することで寄主かどうかを判断している。従来、同科・同属など類縁の植物を寄主とする食植性昆虫種は、寄主植物に存在する特異的な物質を認識することにより寄主を決定しているとされてきた。しかし、近縁種といえどもそれぞれの種独自の寄主選択機構を持っているはずであり、その違いを明らかにすることで食植性昆虫の寄主選択機構をより深く理解することができると考えられる。

本研究では、ウリ科食性甲虫類とウリ科植物を取り上げ、トホシテントウおよびジュウニマダラテントウのテントウ類2種、ウリハムシ、クロウリハムシ、ヒメクロウリハムシのハムシ類3種の計5種について、18種のウリ科植物に対する寄主適合性を調べた。そして、寄主選択の主要な要因である摂食行動に関わる化学因子の解明を行うために、従来ウリ科食性昆虫の寄主特異性を決定しているとされてきた、ウリ科特有の成分であるククルビタシン類に対する摂食反応を調査すると共に、寄主および非寄主植物に存在する摂食行動に関わる化学因子を追究した。

## 第2章 ウリ科植物に対する寄主適合性

5種のウリ科食性甲虫の寄主範囲を比較した。18種のウリ科植物に対する選好性を調べたところ、トホシテントウはカボチャ、ミヤマニガウリ、キカラスウリの順に摂食量が多く、寄主として知られていたアマチャヅルおよびスズメウリは中程度の摂食量であった(第1図)。ジュウニマダラテントウはカボチャ、マクワウリ、スズメウリ、オキナワスズメウリの順に選好性が高かった(第2図)。クロウリハムシはキカラスウリ、アレチウリ、ハヤトウリの摂食量が多かった(第3図)。ヒメクロウリハムシはヘチマを好んで摂食し、他の植物をほとんど摂食しなかった(第4図)。ウリハムシはヒョウタン、ハヤトウリ、スズメウリの順に摂食量が多かった(第5図)。

このうち、アマチャヅルはトホシテントウ、オキナワスズメウリはジュウニマダラテントウだけが好んで摂食した。ニガウリは5種全てにほとんど摂食されなかった。これらのことから、寄主範囲は種によってかなり異なることが判明した。そして野外観察および成育試験から、トホシテントウおよびクロウリハムシの最適な寄主はキカラスウリ、ウリハムシの最適な寄主はカボチャ、キュウリなど多くのウリ科植物であることが判明した。また、ジュウニマダラテントウ、およびヒメクロウリハムシの寄主がそれぞれオキナワスズメウリ、ヘチマであることが初めて明らかになった。

### 第3章 ククルビタシン類に対する摂食反応

多くのウリ科植物に含まれており、かつ外国のウリハムシ類 *Diabrotica* 属に対して摂食刺激物質として働き、寄主決定因子とされているククルビタシンE、B、I、およびE-配糖体（第6図）を用い、ウリ科食性甲虫5種のククルビタシン類に対する摂食反応を調査した。2種のテントウのうち、トホシテントウは特にククルビタシンBおよびE-配糖体に摂食を刺激されたが、ジュウニマダラテントウはほとんど摂食を刺激されなかった（第1表）。3種のウリハムシ類では、ウリハムシ、ヒメクロウリハムシは4種のククルビタシン類全てに摂食を刺激されたが、クロウリハムシはほとんど刺激されなかった（第2表）。ウリ科食性昆虫の中にククルビタシン類に摂食を刺激されない種が存在することが本研究で初めて明らかになった。

### 第4章 ウリ科植物抽出成分に対する摂食反応

18種のウリ科植物葉のメタノール抽出物に対する摂食反応を調査した。トホシテントウはカボチャ、キカラスウリなどのメタノール抽出物に強く摂食を刺激された（第7図）。ジュウニマダラテントウはカボチャ、マクワウリなどの抽出物に摂食を刺激された（第8図）。ウリハムシはアレチウリ、ヒョウタンなどの抽出物に対し強い摂食反応を示した（第9図）。クロウリハムシはキカラスウリ、アレチウリ、およびハヤトウリに対して著しい摂食反応を示した（第10図）。ヒメクロウリハムシは

ヘチマの抽出物に強く摂食を刺激された（第11図）。上記のように、5種のウリ科食性甲虫類はほとんどの寄主のメタノール抽出物に摂食を刺激された。しかし、トホシテントウは寄主であるスズメウリのメタノール抽出物にほとんど摂食を刺激されなかったが、メタノール抽出残渣のヘキサンおよび25%メタノール水溶液抽出物をメタノール抽出物に混合すると摂食刺激活性が高くなった（第12図）。アレチウリの生葉を好んで摂食するジュウニマダラテントウは、トホシテントウと異なり、アレチウリのメタノール抽出物にヘキサンおよび25%メタノール水溶液抽出物を混合しても摂食をほとんど刺激されなかった。一方、アレチウリの水抽出物には本種に対し強い摂食刺激活性が認められ、さらにブタノールと水で分配抽出して得た画分では、全てを混合した場合に強い摂食刺激活性が認められた（第13図）。これらのことから、複数の物質が共力的に作用し、摂食を刺激することが示された。

## 第5章 ウリ科植物葉に含まれるククルビタシン類の分析

18種のウリ科植物葉に含まれるククルビタシン類の分析を行った。ククルビタシン類が検出されたのはアレチウリ、ヒョウタン、マクワウリなど一部の植物だけであった。トホシテントウおよびクロウリハムシの寄主であるキカラスウリ、ジュウニマダラテントウの寄主であるオキナワスズメウリ、ヒメクロウリハムシの寄主であるヘチマからはククルビタシン類は検出されなかった。このことから、ククルビタシン類以外の摂食刺激物質がウリ科食性テントウおよびハムシ類の寄主選択に関与していることが示唆された。

## 第6章 寄主植物に含まれる摂食刺激物質

トホシテントウ、クロウリハムシ、およびウリハムシが好んで摂食するキカラスウリ葉に含まれる摂食刺激物質を調べた。3種の甲虫類に対し摂食刺激活性を示したメタノール抽出物をヘキサン、クロロホルム、酢酸エチル、水飽和n-ブタノール、および水の各画分に分画して摂食試験を行ったところ、トホシテントウはヘキサン区と水

区を混合した場合、クロウリハムシはヘキサン区、酢酸エチル区、および水区を混合した場合、ウリハムシはヘキサン区に強い摂食刺激活性が認められた。それぞれの活性画分の分離分析を行い、トホシテントウはスピナステロール類縁化合物、糖類、および無機物、クロウリハムシはスピナステロール類縁化合物、Luteolin-7-O-glucoside、ウリハムシはヘキサン区に含まれる複数の物質に摂食を刺激されることが判明した（第14～16図）。

ジュウニマダラテントウの寄主であるオキナワスズメウリ葉に含まれる摂食刺激物質を上記の方法で分離分析を行い、摂食試験を行った。その結果、ヘキサン区と水区を混合した場合に強い摂食刺激活性が認められた。ヘキサン区の活性物質は長鎖アルキル基を持つ脂溶性の物質であることが示唆され、中でもパルミチン酸と糖類の混合物が強い摂食刺激活性を示した（第17図）。水区の活性物質はグルコース、フルクトース、およびスクロースなどの糖類と判明した（第18図）。

ヒメクロウリハムシの寄主であるヘチマ葉に含まれる摂食刺激物質も前記と同様に分離分析を行った。摂食試験の結果、ヘキサン区と酢酸エチル区を混合した場合に強い摂食刺激活性が認められた。さらにヘキサン区および酢酸エチル区を分離分析したところ、それぞれの画分に存在する複数の物質に摂食を刺激されることが明らかになった（第19図）。

以上のことから、ウリ科食性甲虫類の寄主選択にはククルビタシン類に加え、寄主に存在する複数の物質が関与していることが明らかになった。ウリ科食性昆虫に対し、ウリ科寄主植物にククルビタシン類以外の摂食刺激物質が存在することを明らかにしたのは本研究が初めてである。

## 第7章 非寄主植物に含まれる摂食阻害物質

5種の供試虫全てにほとんど摂食されなかったニガウリ葉に含まれる摂食阻害物質を調べた。強い摂食阻害活性の認められたニガウリ葉のメタノール抽出物をクロロホルム、酢酸エチル、水飽和 *n*-ブタノール、および水の各画分に分画して摂食試験を

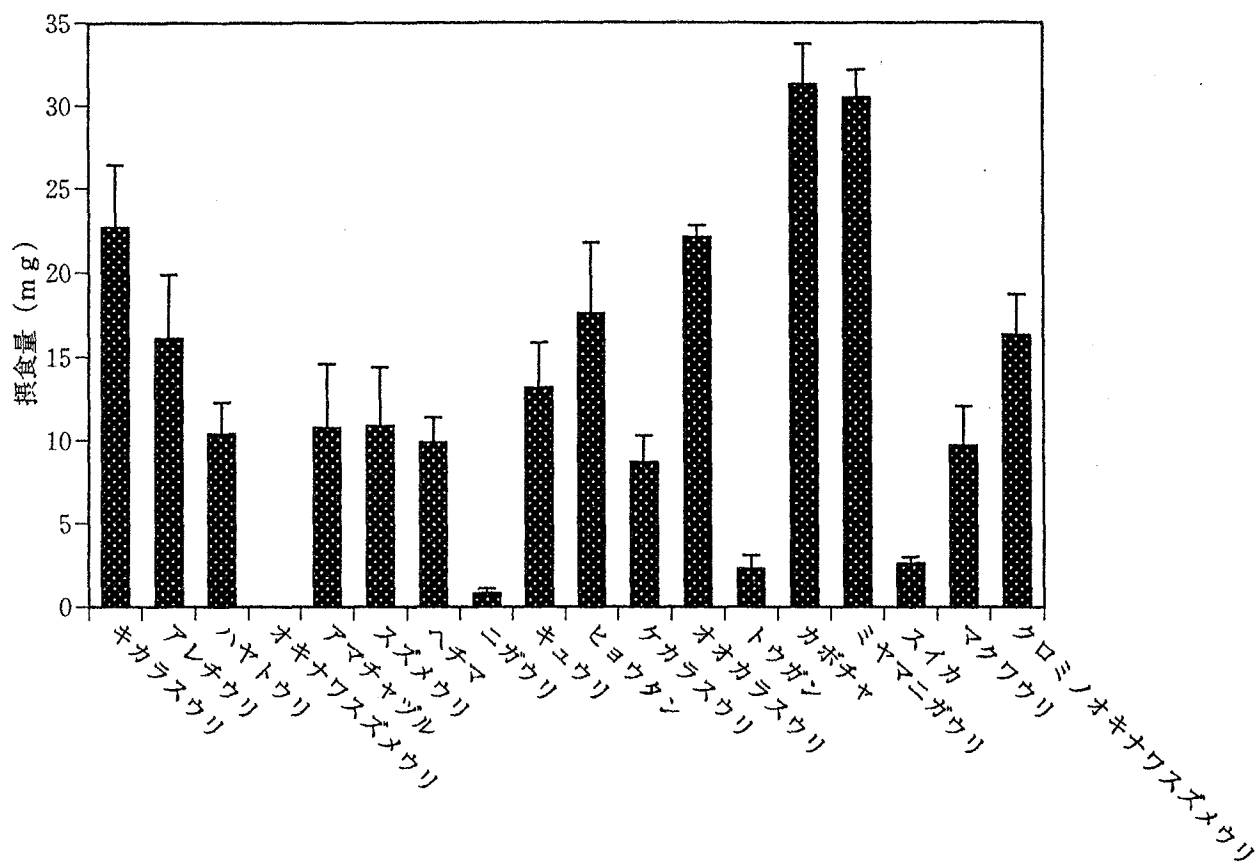
行ったところ、クロロホルム区に強い摂食阻害活性が認められた。クロロホルム画分をさらに分離分析し、摂食阻害物質としてモモルディシンⅠおよびⅡ（第20図）を単離した。クロウリハムシは0.05mg/mlのモモルディシンⅠ、0.5mg/mlのモモルディシンⅡに摂食を阻害された（第21図）。ウリハムシは5mg/mlのモモルディシンⅡに摂食を阻害された（第22図）。一方、トホシテントウおよびジュウニマダラテントウはモモルディシンⅠおよびⅡ単独では摂食を阻害されなかった（第22図）が、モモルディシンⅠおよびⅡを混合した場合、もしくはモモルディシンⅡとシリカゲルカラム画分を混合した場合に摂食を阻害された（第23図）。

また、各ウリ科食性テントウおよびハムシ類が寄主とできない植物にも摂食阻害物質の存在が認められた。

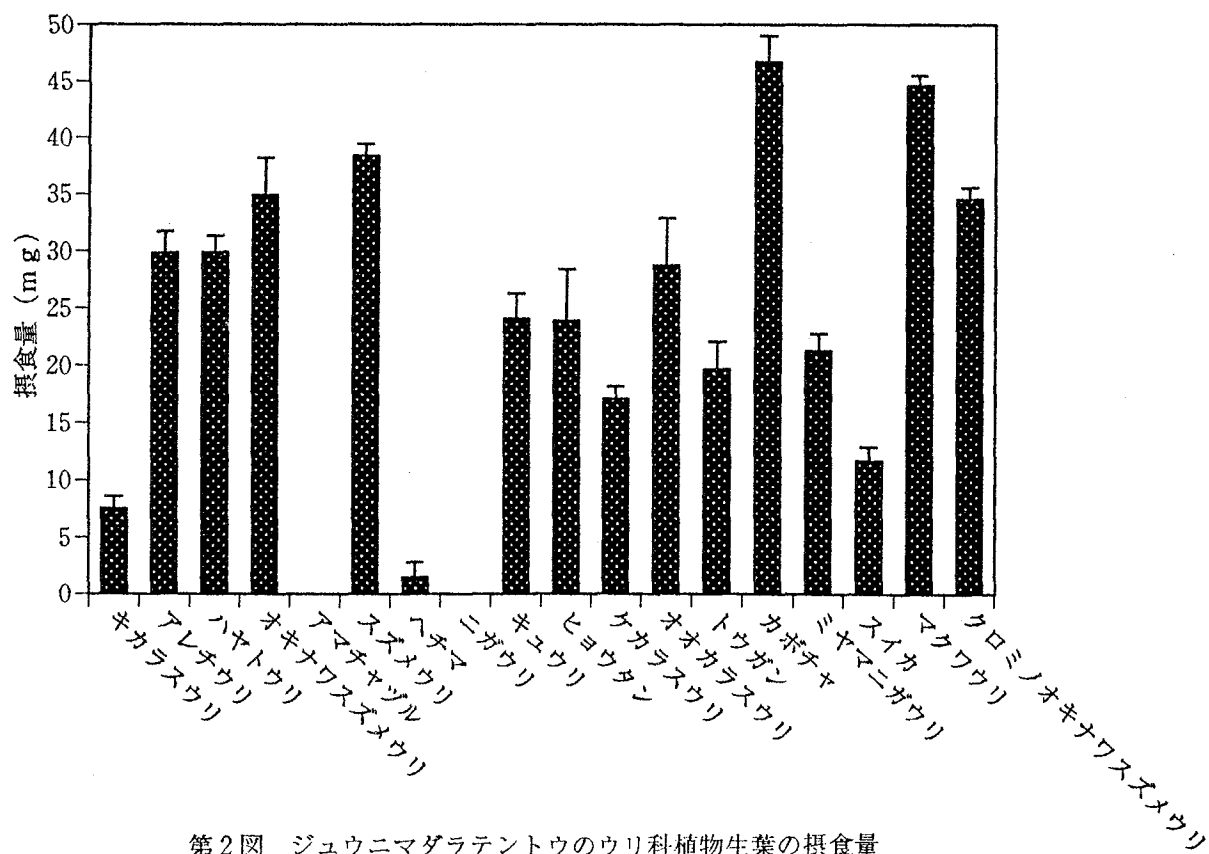
#### まとめ

本研究はウリ科食性甲虫類という特定の種を対象としたものであるが、5種のウリ科食性甲虫類の摂食行動はウリ科植物に特有のククルビタシン類だけでなく、それぞれの寄主および非寄主植物に存在する物質にも支配されており、その影響は種によって異なることが明らかになった。したがって、これらの化学物質の有無・量の多少により5種のウリ科食性甲虫類間に寄主特異性が生じていると判断された。

以上のように、近縁種間における寄主選択機構の差異を明らかにすることは、特定の昆虫種だけを対象にした環境負荷の少ない害虫防除の基礎として重要であると考えられる。

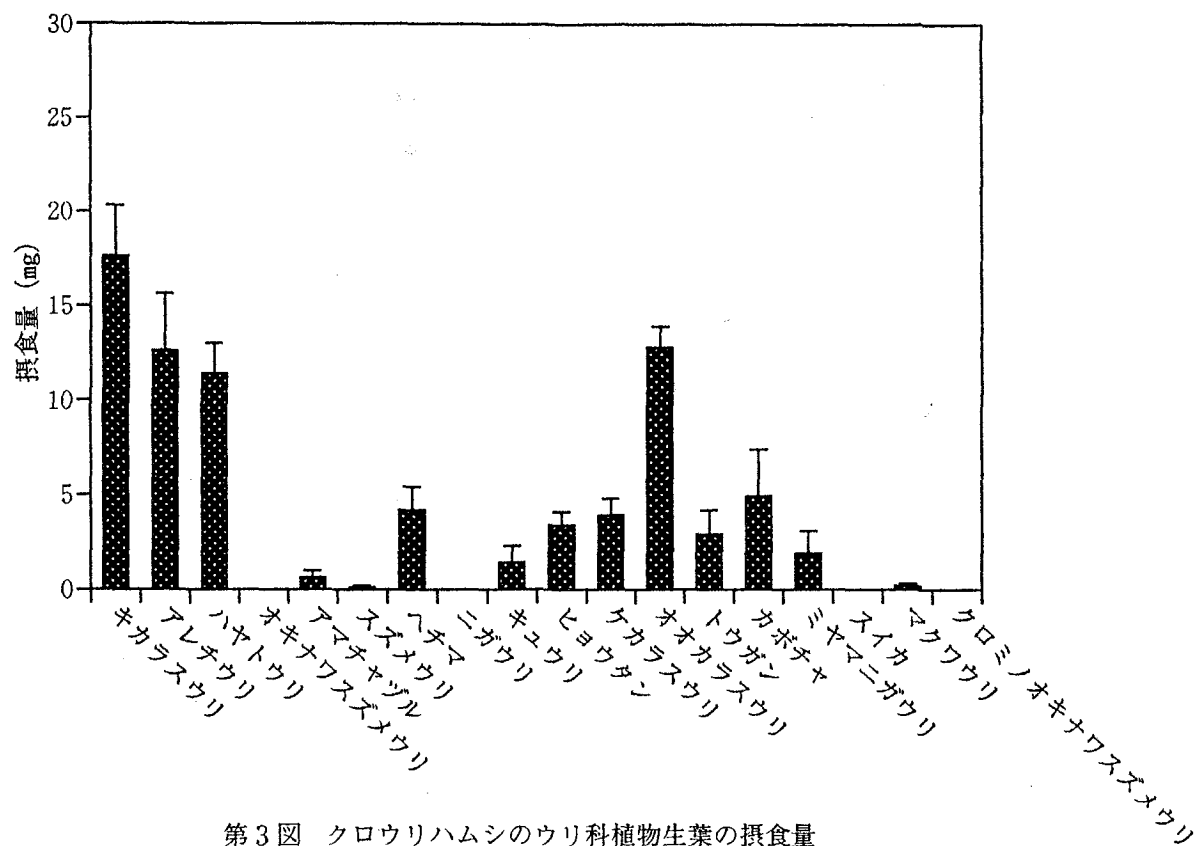


第1図 トホシテントウのウリ科植物生葉の摂食量

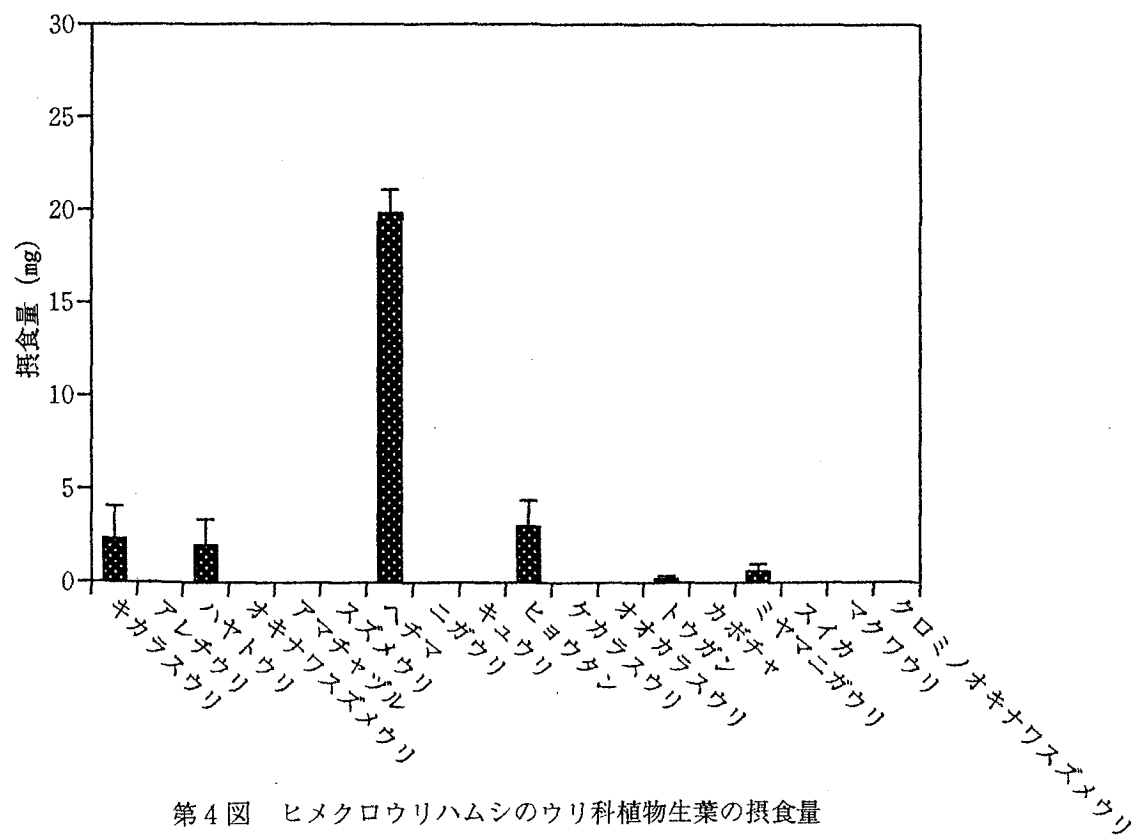


第2図 ジュウニマダラテントウのウリ科植物生葉の摂食量

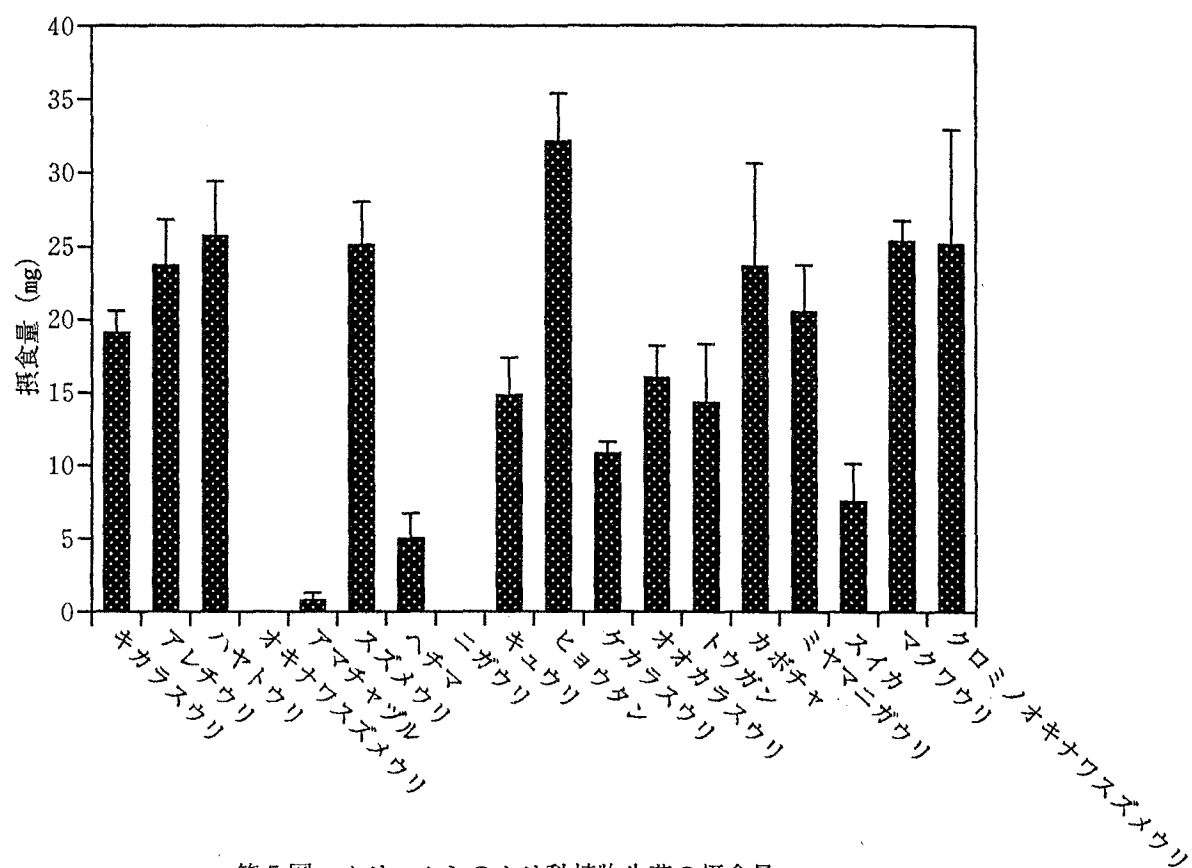




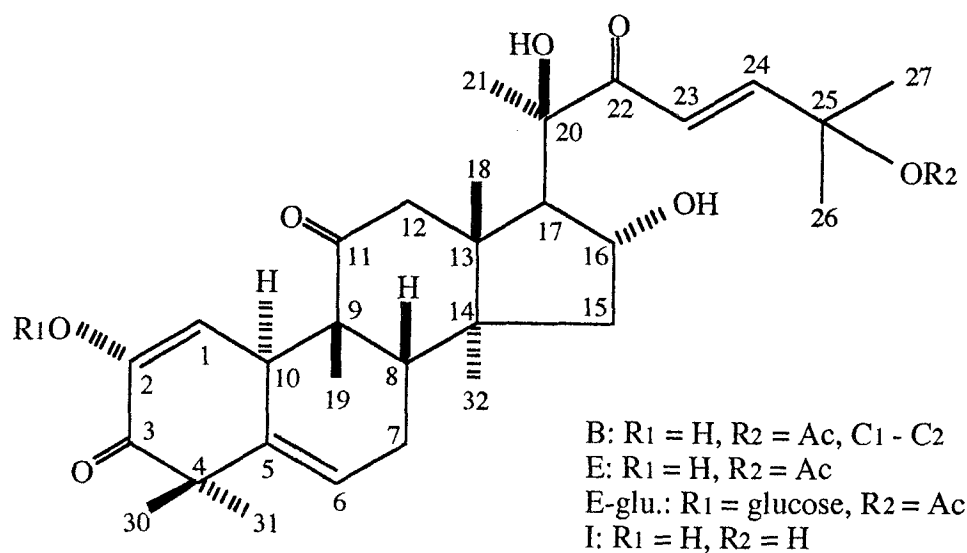
第3図 クロウリハムシのウリ科植物生葉の摂食量



第4図 ヒメクロウリハムシのウリ科植物生葉の摂食量



第5図 ウリハムシのウリ科植物生葉の摂食量



第6図 ククルビタシン類の構造

第1表 テントウ類のククルビタシン類に対する摂食反応  
(摂食刺激指数：平均値±標準誤差)

ククルビタシン (mg/ml)	供試虫					
	トホシテントウ			ジュウニマダラテントウ		
	対照区	処理区		対照区	処理区	
E,	1.0	1.3 ± 0.9	51.7 ± 9.8 *	1.3 ± 1.3	0	ns
	0.1	0	49.3 ± 3.2 *	0	0.3 ± 0.3	ns
	0.01	12.7 ± 8.6	64.0 ± 24.1 *	—	—	
B,	1.0	1.0 ± 1.0	76.0 ± 6.4 *	0	40.3 ± 8.4 *	
	0.1	4.0 ± 3.5	67.0 ± 3.5 *	0	8.0 ± 8.0	ns
	0.01	8.0 ± 5.3	88.3 ± 29.3 *	—	—	
I,	1.0	0	92.3 ± 21.4 *	0	0	ns
	0.1	0	81.3 ± 7.1 *	0	0	ns
	0.01	3.3 ± 1.3	17.7 ± 6.7 *	—	—	
E-glu.,	1.0	0	135.7 ± 11.3 *	0	14.7 ± 12.3	ns
	0.1	2.3 ± 1.5	104.3 ± 29.9 *	0	1.0 ± 1.0	ns
	0.01	0.7 ± 0.7	50.0 ± 16.9 *	—	—	

—: 試験を行わなかった

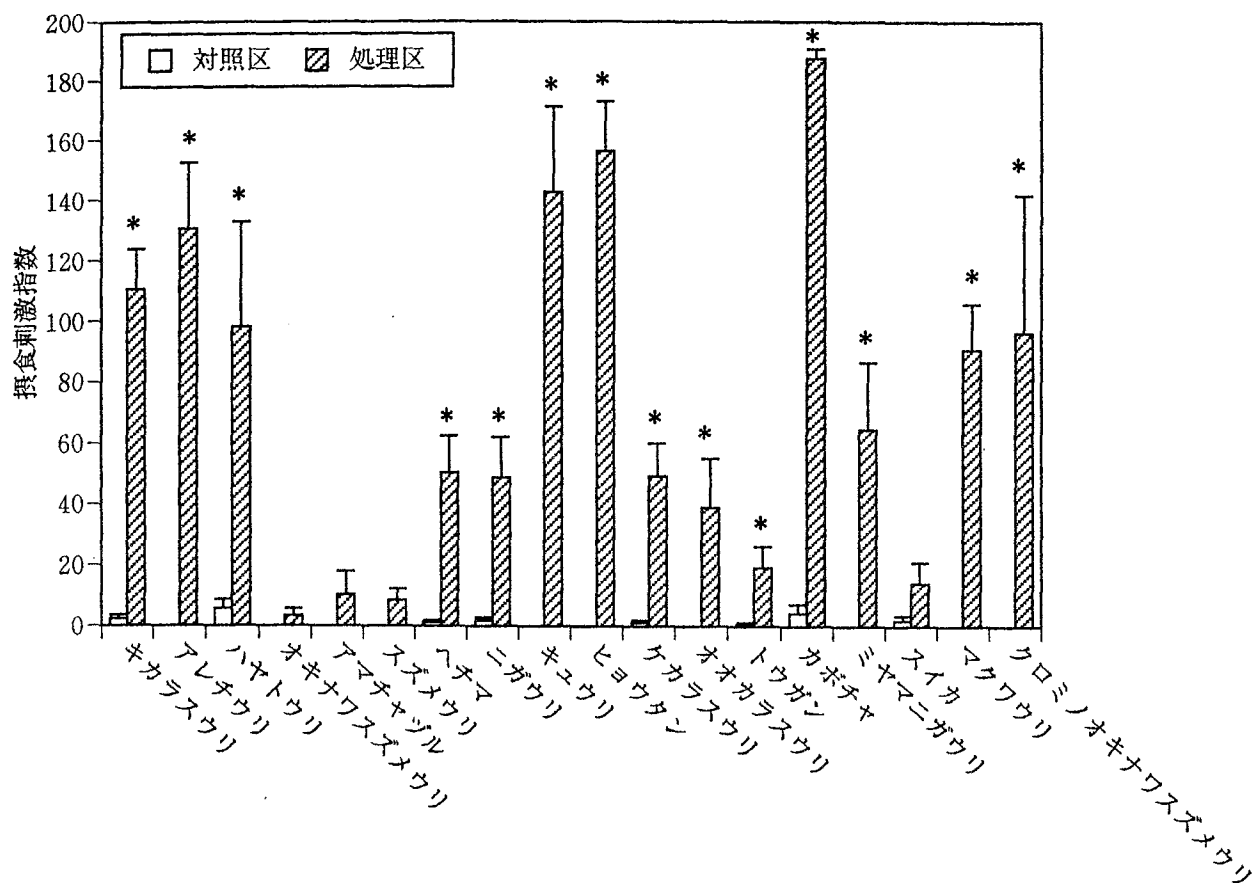
\* Mann-Whitney testで有意差あり ( $p < 0.05$ )

第2表 ハムシ類のククルピタシン類に対する摂食反応 (摂食刺激指数：平均値±標準誤差)

ククルピタシン (mg/ml)		供試虫							
		ウリハムシ		ヒメクロウリハムシ				クロウリハムシ	
		対照区	処理区	対照区	処理区	対照区	処理区	対照区	処理区
E	0.5	6.0 ± 2.5	182.7 ± 4.3 *	0.7 ± 0.7	188.3 ± 6.7 *	0	0	0	0
	0.1	7.3 ± 6.4	156.7 ± 26.7 *	7.7 ± 5.8	163.0 ± 7.6 *	0	0	0	0
	0.05	12.7 ± 5.0	193.7 ± 6.3 *	0	127.7 ± 6.6 *	0	0	0	0
	0.01	6.3 ± 6.3	108.3 ± 47.6 *	1.7 ± 1.7	51.3 ± 18.7 *	0	0	0	0
	0.005	0	39.0 ± 11.6 *	0	88.0 ± 9.6 *	0	0	0	0
	0.001	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.7	0	21.3 ± 4.5 *	—	—	—	—
B	0.5	0	144.7 ± 19.2 *	1.3 ± 0.9	164.3 ± 19.4 *	4.7 ± 4.7	19.7 ± 19.7	0	0
	0.1	4.7 ± 3.7	190.0 ± 5.0 *	1.3 ± 1.3	120.0 ± 7.4 *	0	0.7 ± 0.7	0	0
	0.05	3.0 ± 2.5	176.7 ± 11.1 *	0	168.0 ± 2.1 *	0	0	0	0
	0.01	6.3 ± 5.3	148.3 ± 33.2 *	3.0 ± 1.0	187.3 ± 8.2 *	2.0 ± 1.2	33.7 ± 10.7 *	0	0
	0.005	0.7 ± 0.7	129.7 ± 44.8 *	0	150.0 ± 38.0 *	1.3 ± 1.3	2.3 ± 2.3	0	0
	0.001	0	0	0	44.7 ± 9.9 *	—	—	—	—
I	0.5	1.3 ± 0.9	164.0 ± 6.7 *	7.3 ± 5.5	195.0 ± 1.7 *	0.7 ± 0.7	0	0	0
	0.1	15.7 ± 10.3	183.0 ± 8.2 *	5.3 ± 4.4	198.3 ± 1.7 *	0	1.0 ± 0.6	0	0
	0.05	9.3 ± 5.2	171.0 ± 18.6 *	2.0 ± 2.0	195.3 ± 0.9 *	0.3 ± 0.3	1.7 ± 1.2	0	0
	0.01	4.3 ± 3.4	145.7 ± 14.5 *	0	193.7 ± 4.9 *	0	0.7 ± 0.7	0	0
	0.005	0	8.3 ± 8.3	0.7 ± 0.7	134.3 ± 35.2 *	0	0	0	0
	0.001	0	0.3 ± 0.3	1.3 ± 0.9	103.0 ± 9.5 *	—	—	—	—
E-glu.	0.5	8.6 ± 3.0	188.0 ± 5.5 *	0	188.3 ± 6.7 *	0	0	0	0
	0.1	9.0 ± 0.8	192.3 ± 2.7 *	1.0 ± 1.0	187.3 ± 7.7 *	0	0.7 ± 0.7	0	0
	0.05	10.7 ± 5.2	192.3 ± 4.1 *	1.7 ± 1.7	172.7 ± 5.4 *	0	0	0	0
	0.01	0.3 ± 0.3	165.3 ± 34.2 *	0	154.7 ± 25.9 *	0.7 ± 0.7	0.3 ± 0.3	0	0
	0.005	10.0 ± 5.0	197.3 ± 0.9 *	4.0 ± 4.0	188.0 ± 9.6 *	0	0	0	0
	0.001	2.3 ± 2.3	2.0 ± 1.0	2.3 ± 2.3	121.0 ± 33.3 *	—	—	—	—

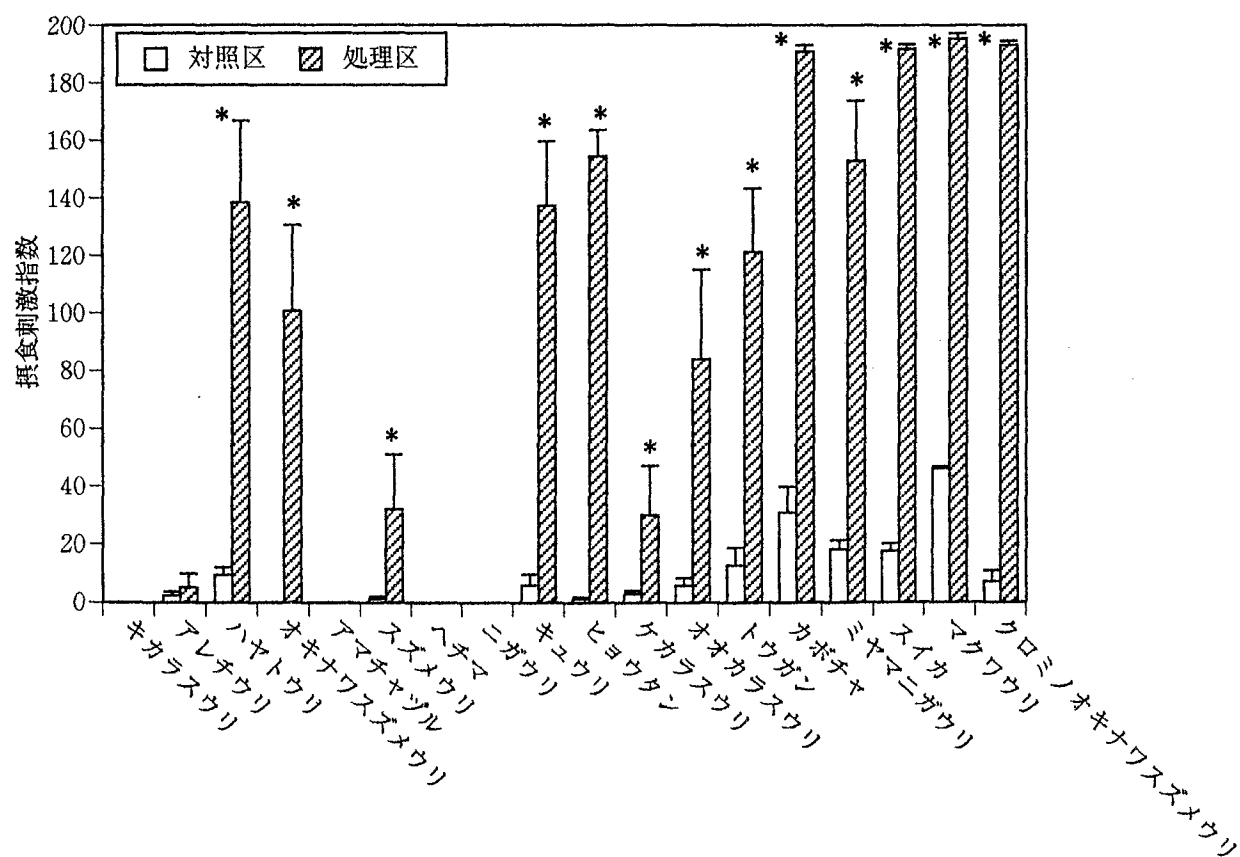
—: 試験を行わなかった

\* Mann-Whitney testで有意差あり ( $p < 0.05$ )



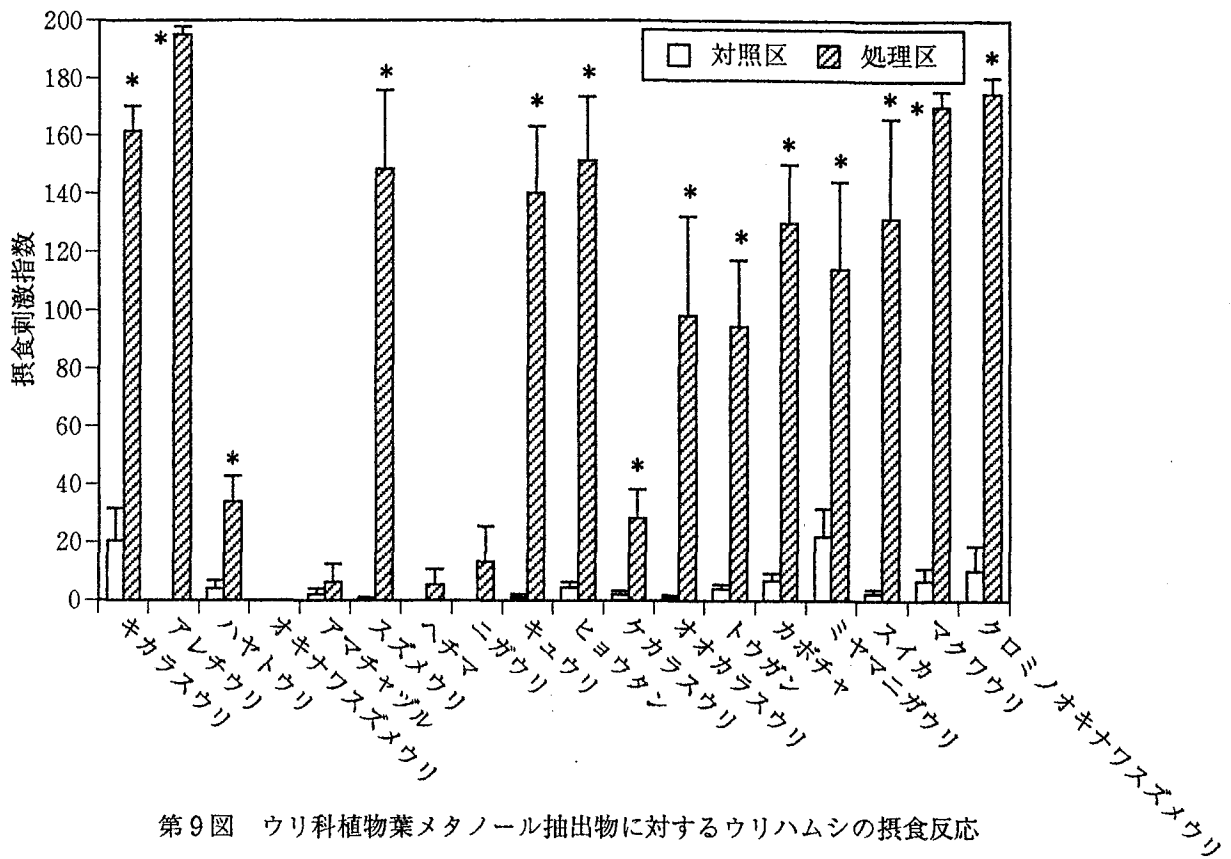
第7図 ウリ科植物葉メタノール抽出物に対するトホシテントウの摂食反応

\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり



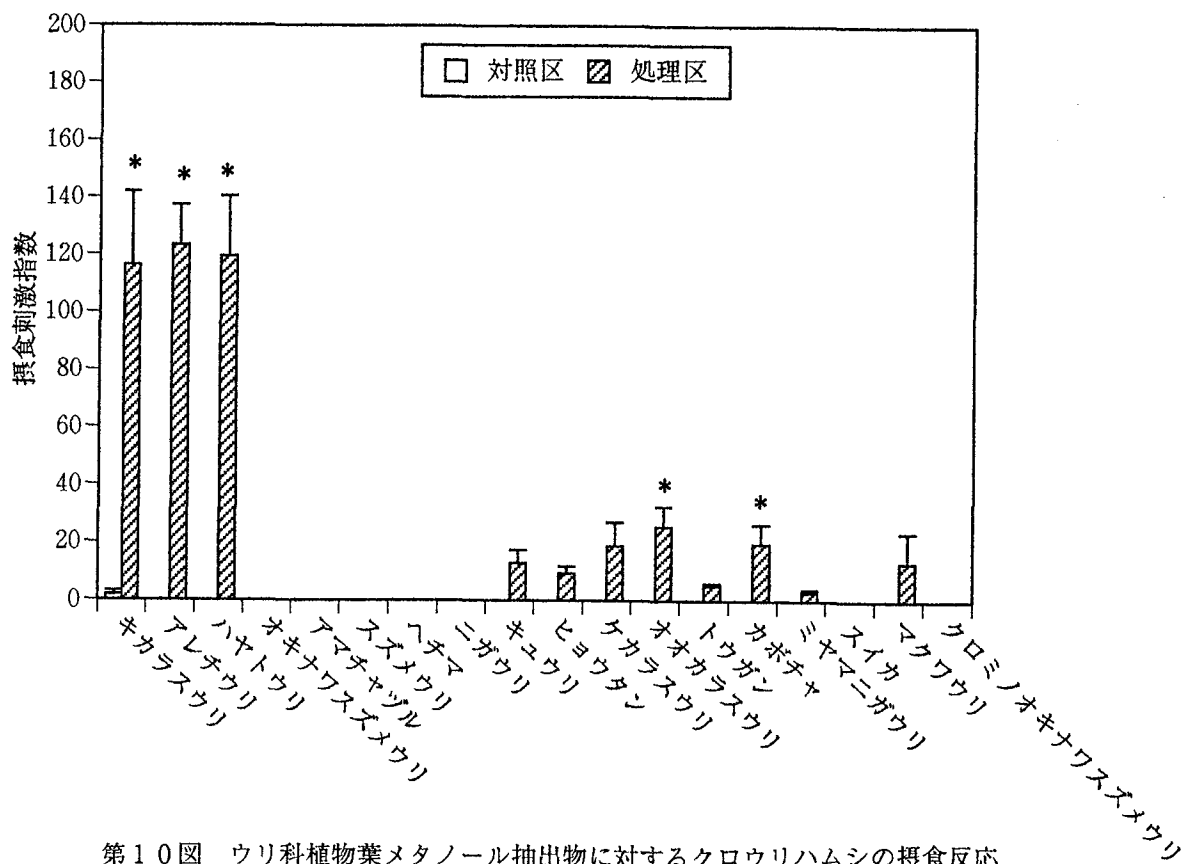
第8図 ウリ科植物葉メタノール抽出物に対するジュウニマダラテントウの摂食反応

\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり



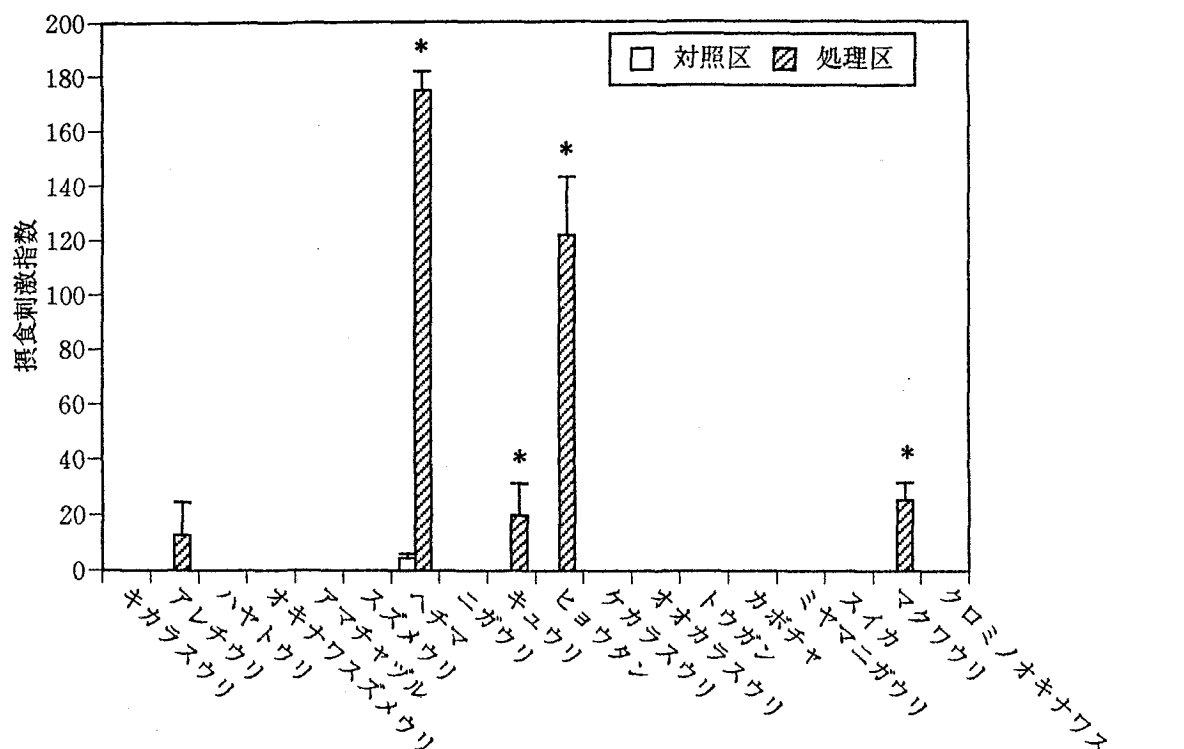
第9図 ウリ科植物葉メタノール抽出物に対するウリハムシの摂食反応

\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり

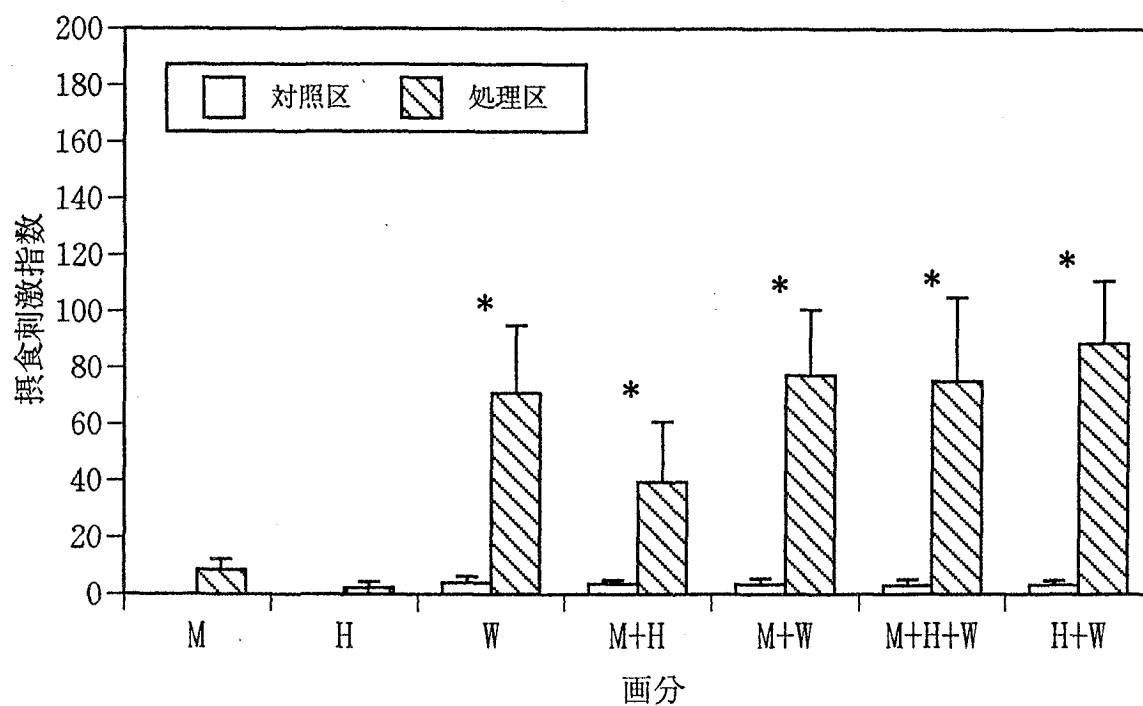


第10図 ウリ科植物葉メタノール抽出物に対するクロウリハムシの摂食反応

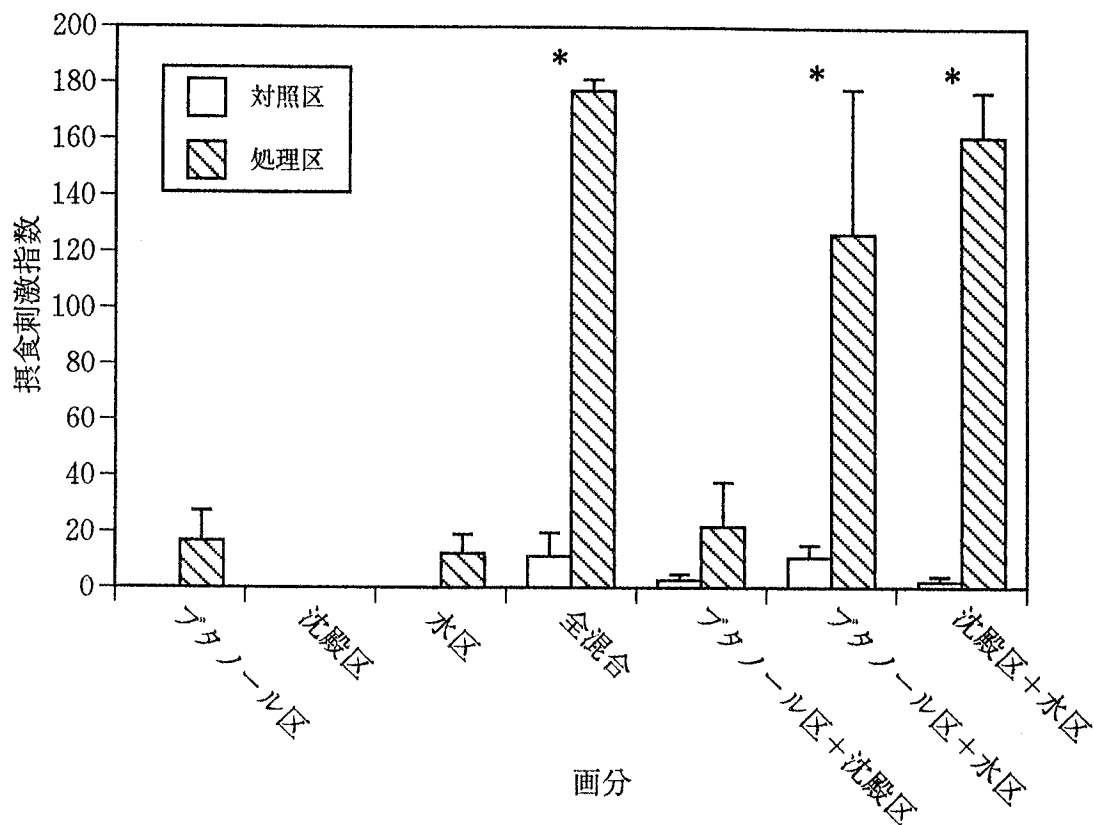
\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり



第11図 ウリ科植物葉のメタノール抽出物に対するヒメクロウリハムシの摂食反応  
 \* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり

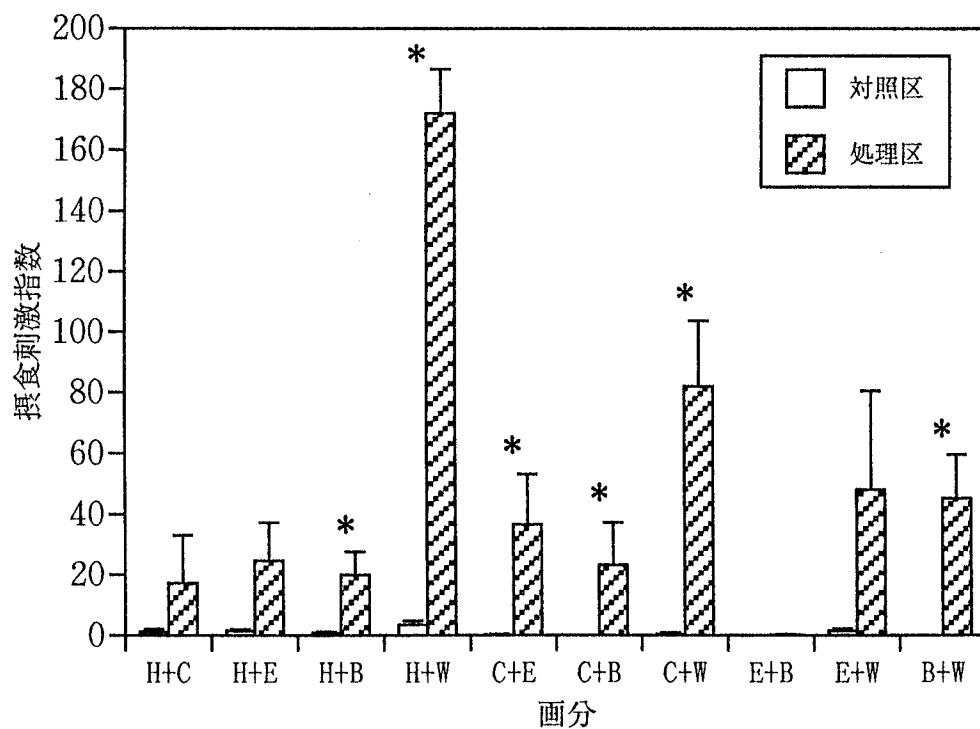


第12図 スズメウリ抽出物に対するトホシテントウの摂食反応.  
 M:メタノール抽出物、H:ヘキサン画分、W:水画分.  
 \* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり.



第13図 アレチウリ水抽出物の各画分に対するトホシテントウの摂食反応.

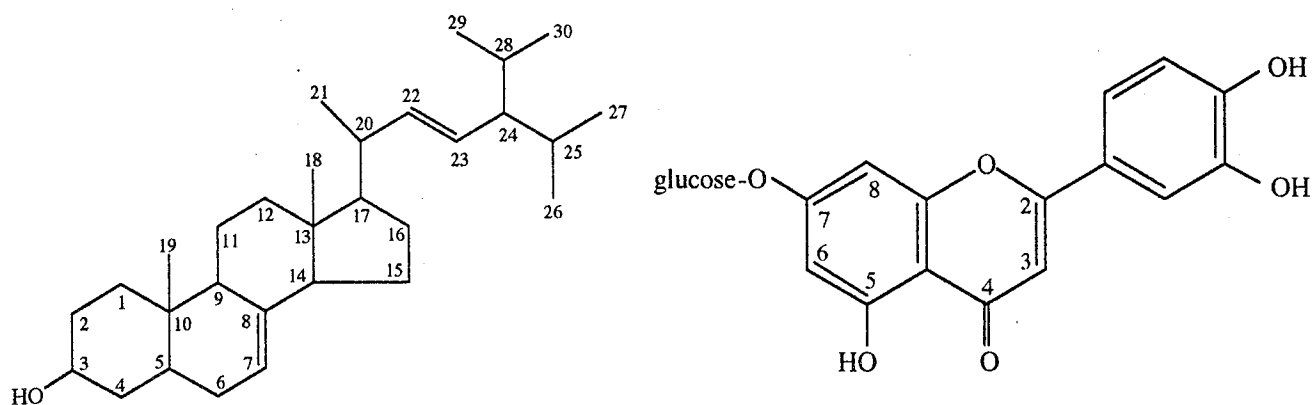
\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり



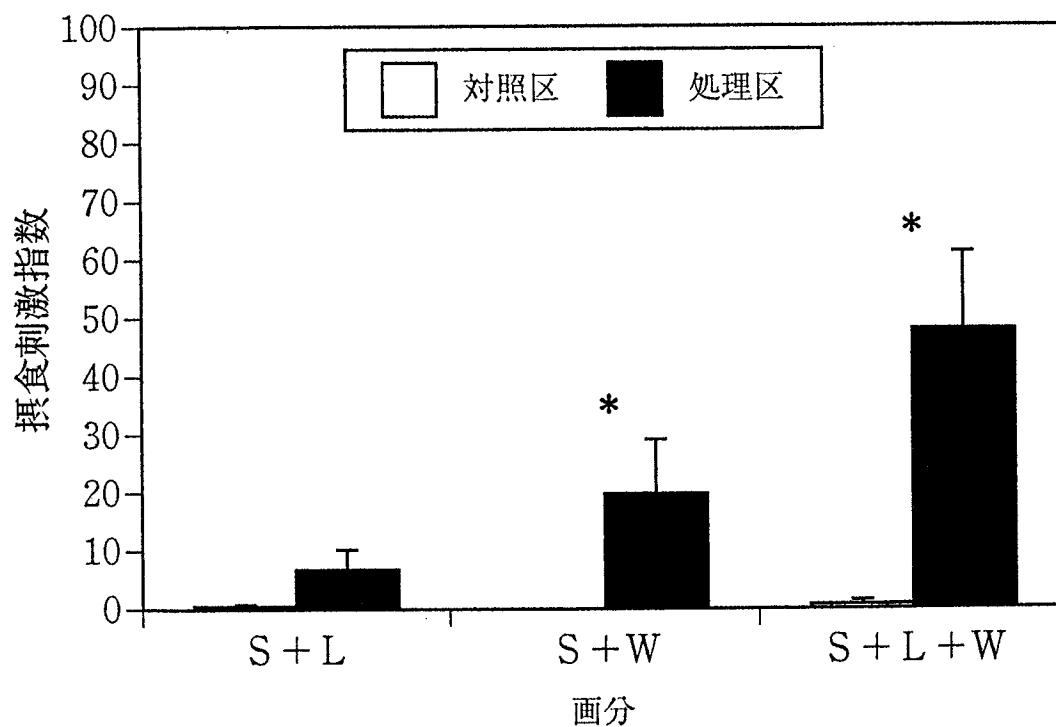
第14図 キカラスウリ各画分(2画分)混合物に対する摂食反応. H:ヘキササン区、C:クロロホルム区、E:酢酸エチル区、B:ブタノール区、W:水区

\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり



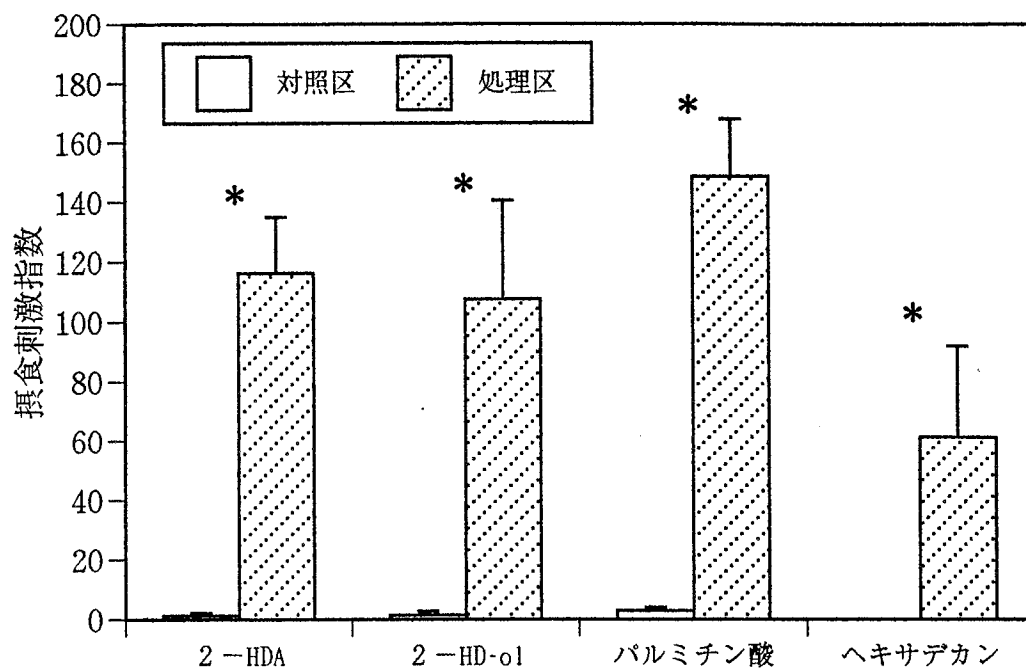


第15図 キカラスウリヘキサノ区から単離したスピナステロール類縁体（左）および酢酸エチル区から単離したLuteolin-7-O-glucoside（右）

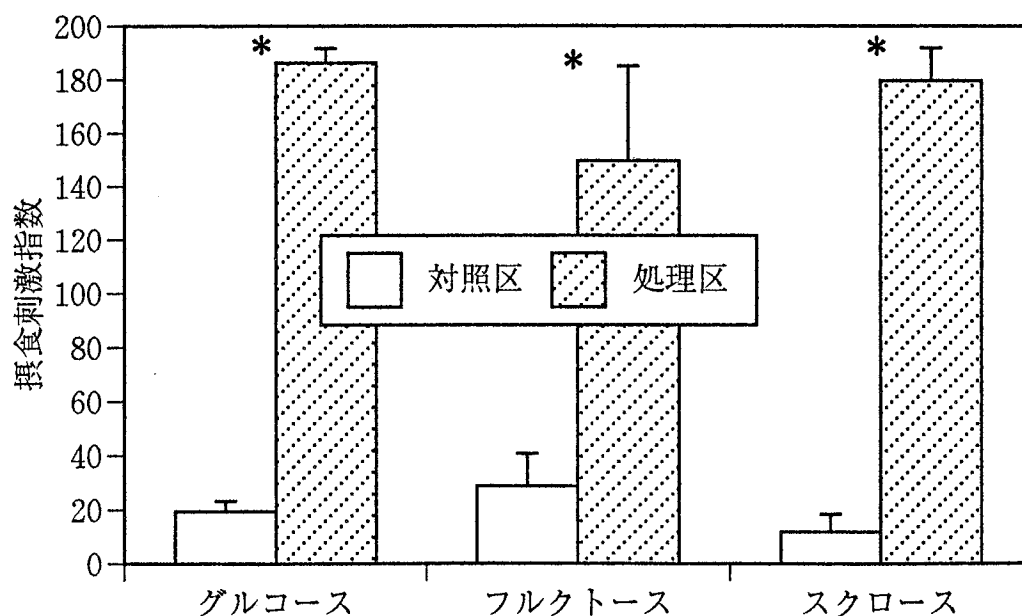


第16図 キカラスウリから単離した活性物質に対するクロウリハムシの摂食反応。S：ステロール（0.2 mg/ml）、L：Luteolin-7-O-glucoside（3.3 mg/ml）、W：水区

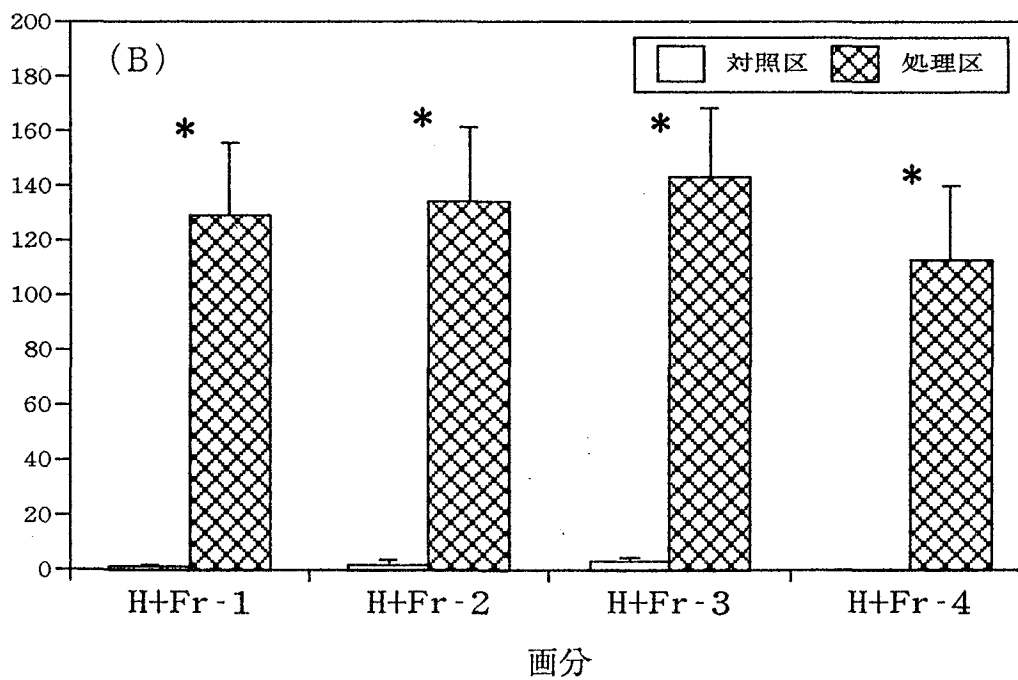
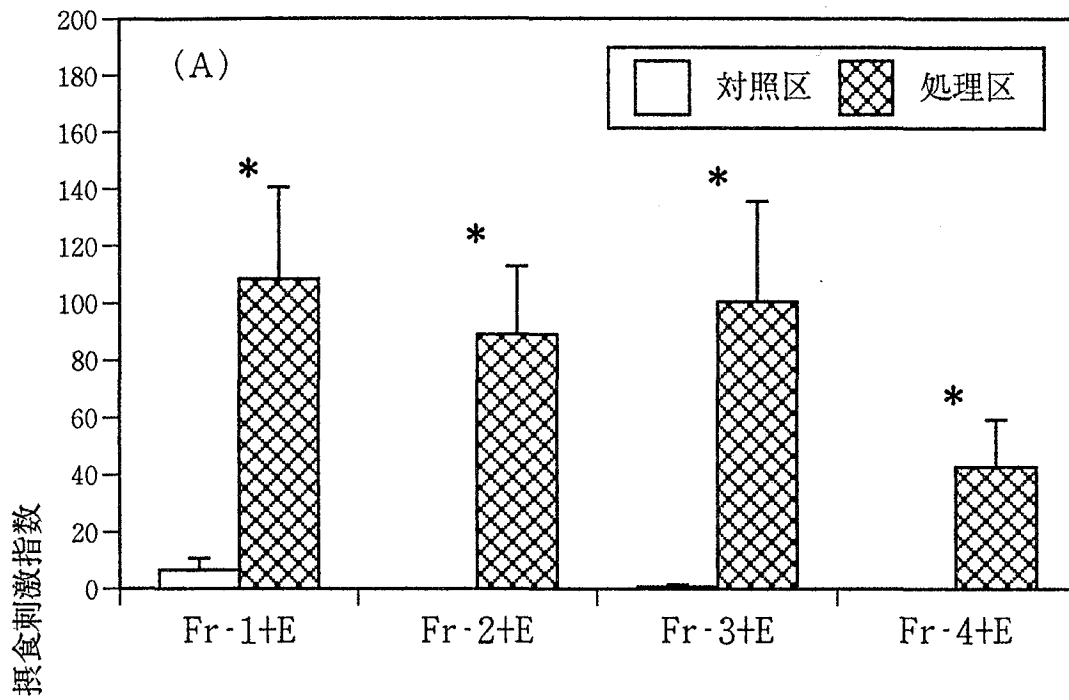
\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ ) で有意差あり



第17図 標品に対するジュウニマダラテントウの摂食反応。  
濃度はいずれも0.02mg/mlとし、水区と混合して行った。  
2-HDA: 2-hexadecanoic acid, 2-HD-ol: 2-hexadecanoic alcohol.  
\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり。

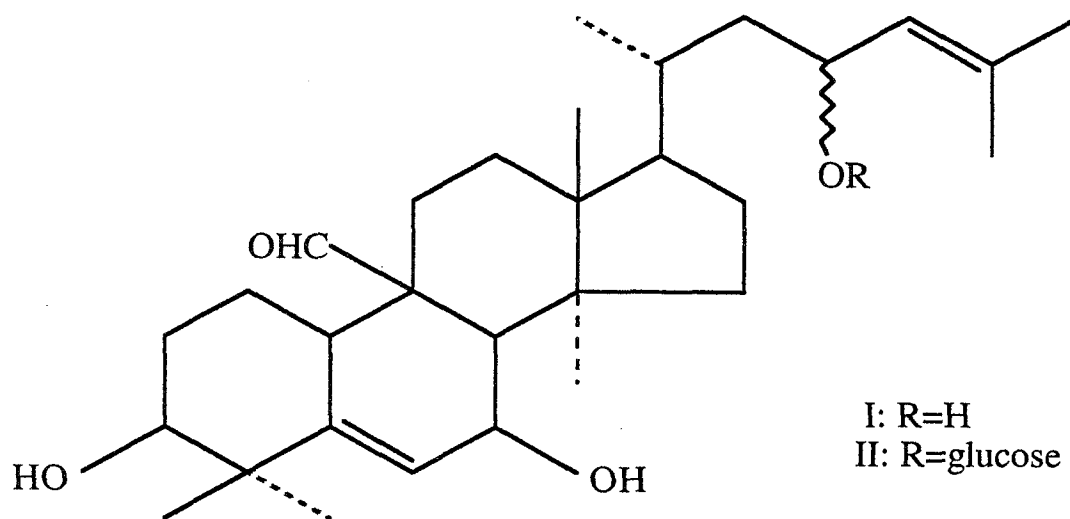


第18図 糖標品に対するジュウニマダラテントウの摂食反応。  
濃度はいずれも10mg/mlとし、ヘキササン区と混合して試験を行った。  
\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ )で有意差あり。

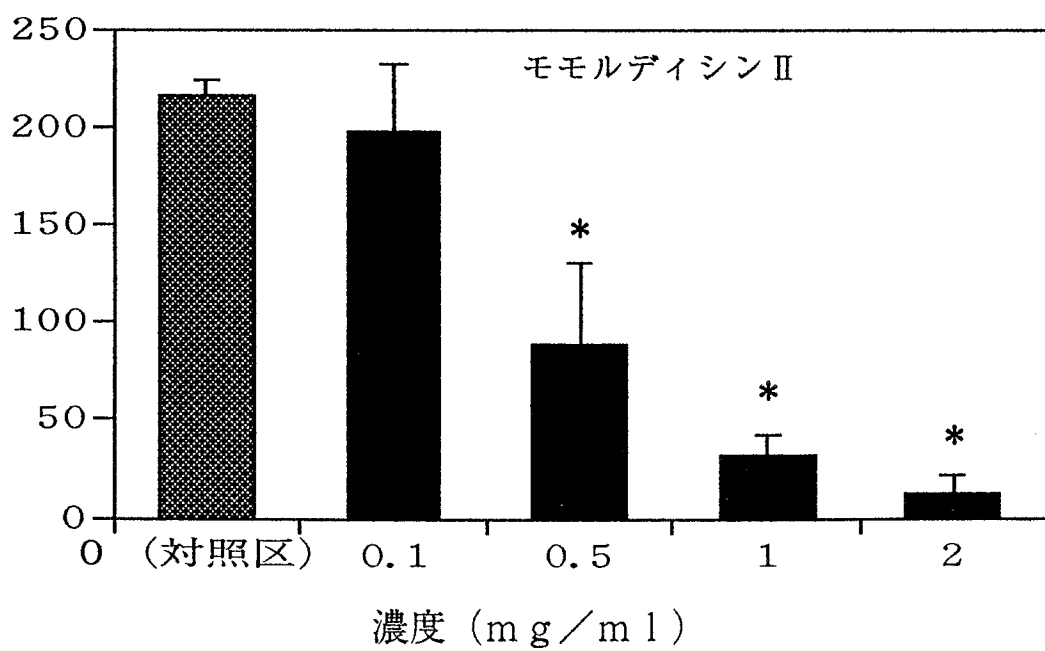
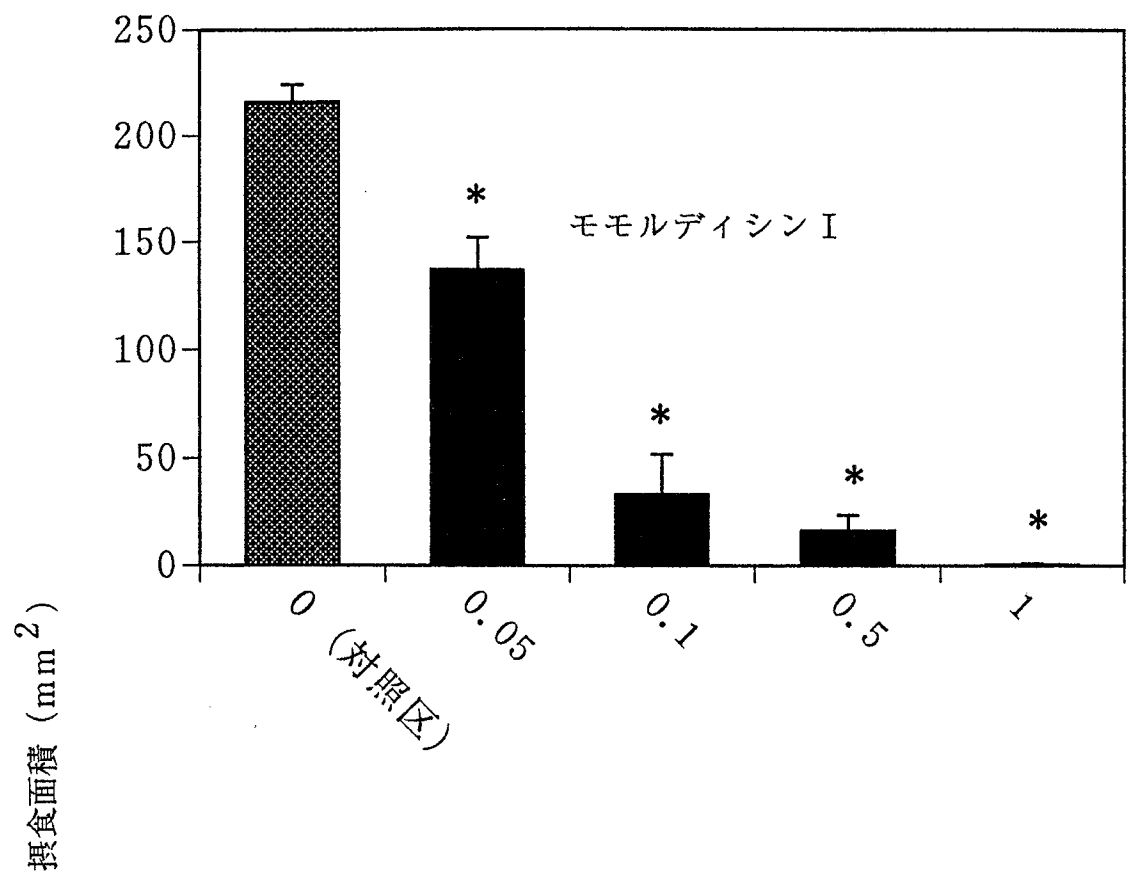


第19図 ヘチマヘキサン区シリカゲルカラム画分 (A) および酢酸エチル区ゲルろ過画分 (B) に対するヒメクロウリハムシの摂食反応。ヘキサン画分の試験には酢酸エチル区を、酢酸エチル画分にはヘキサン区を混合して行った。H：ヘキサン区、E：酢酸エチル区。

\* Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ ) で有意差あり

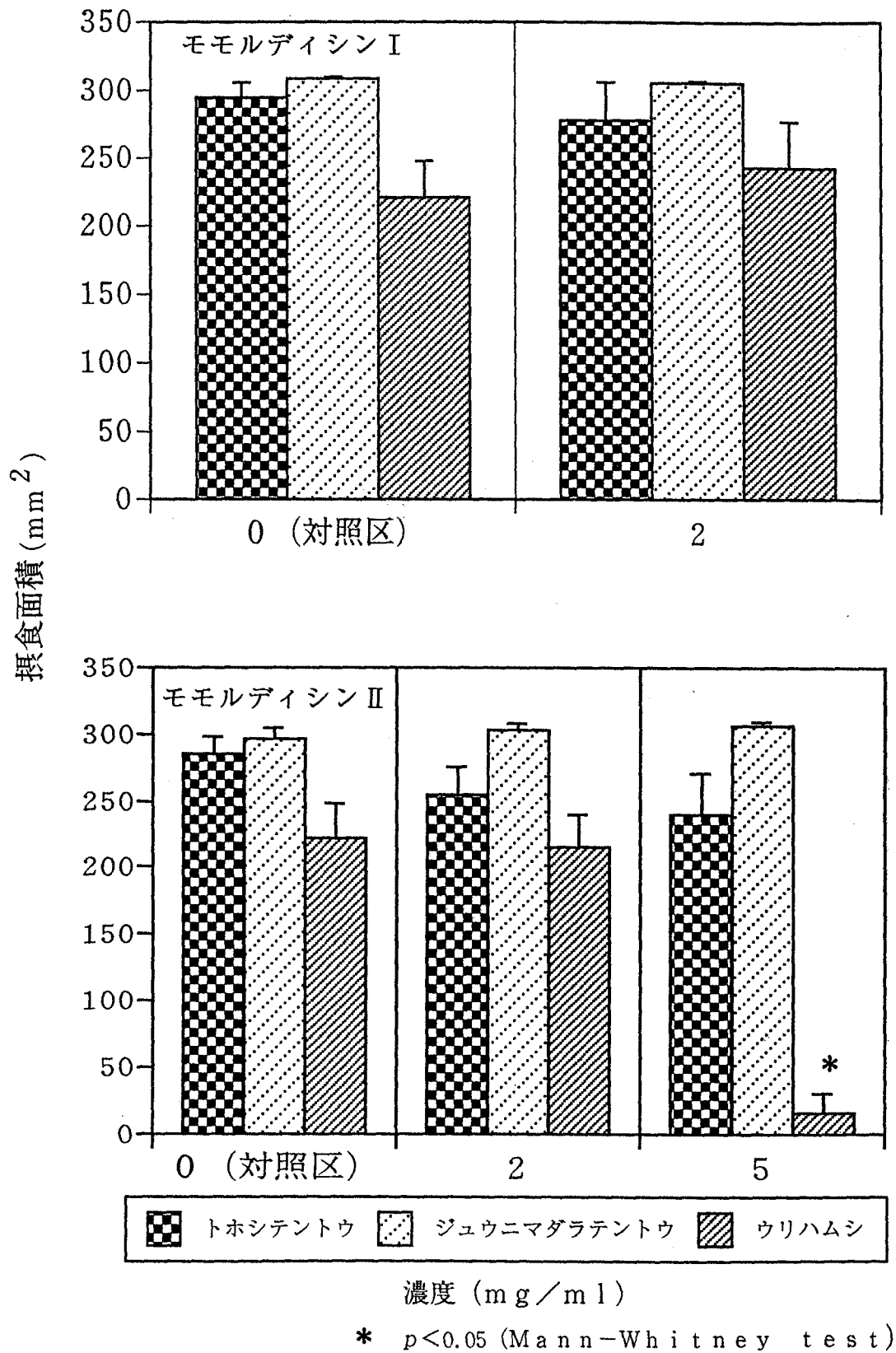


第20図 モモルディシン I および II の構造

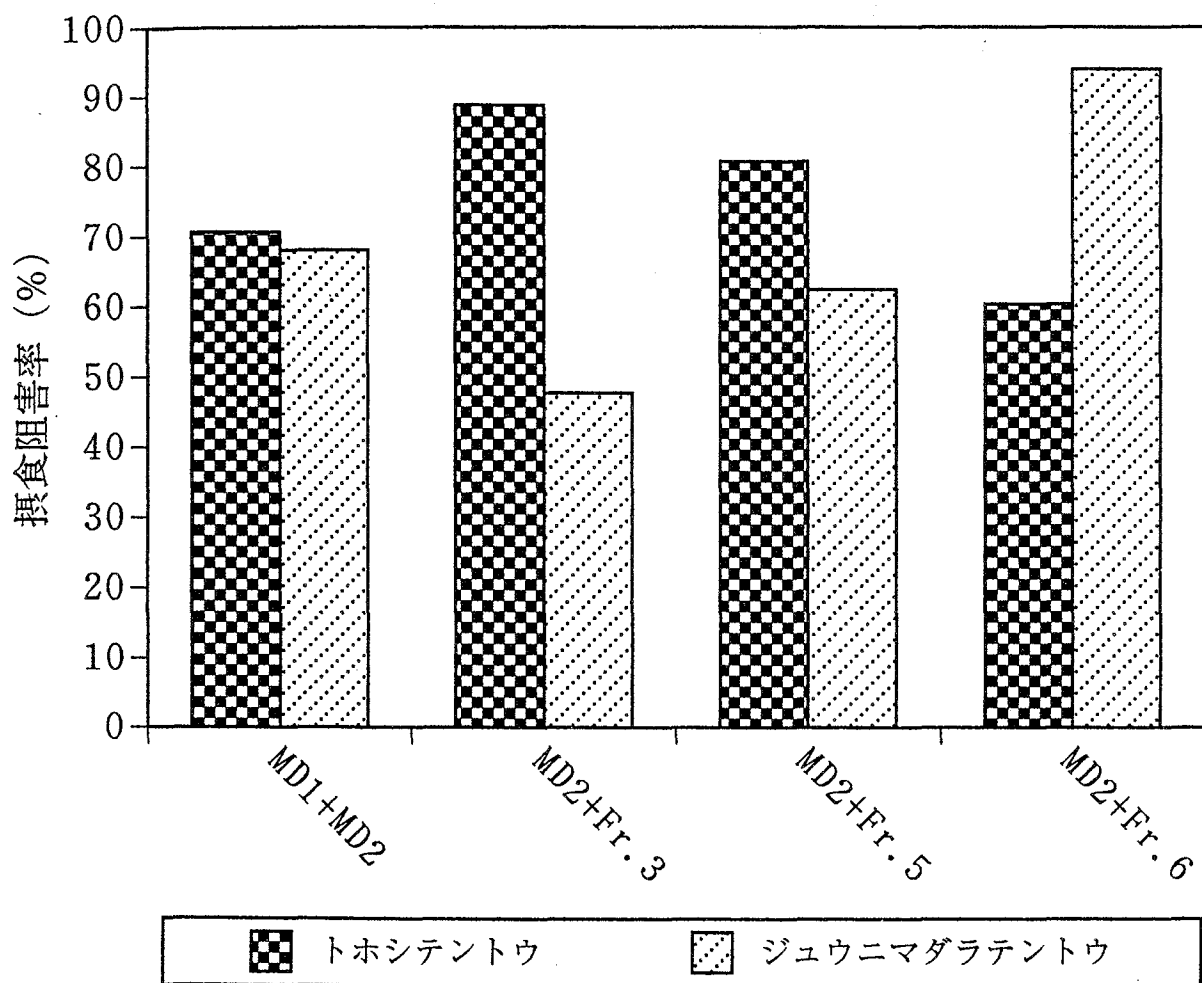


\*  $p < 0.05$  (Mann-Whitney test)

第21図 モモルデイシン類に対するクロウリハムシの摂食反応



第22図 モモルディシン類に対するウリ科食性甲虫3種の摂食反応



第23図 モモルディシンⅡ (MD 2) とモモルディシンⅠ (MD 1) およびクロロホルム区シリカゲルカラム画分との混合物に対する2種のテントウの摂食反応。

## 論文審査結果要旨

ウリ科食性甲虫類の寄主選択には、ウリ科植物に特有の苦味物質であるククルビタシンによる摂食刺激が重要な役割を果たしていると言われてきたが、日本に生息するトホシテントウ、ジュウニマダラテントウの2種のテントウ類、ウリハムシ、クロウリハムシ、ヒメクロウリハムシの3種のハムシ類、計5種のウリ科食性甲虫類の寄主範囲はそれぞれ異なっており、ククルビタシン類だけでは寄主範囲の違いを説明できない。また、これらの甲虫類のククルビタシン類に対する摂食反応も明らかにされていない。本研究はウリ科食性甲虫類の寄主選択機構を解明するために、まずククルビタシン類の役割を明らかにするとともに、これら甲虫類の摂食に関わる物質について追究したものである。

実験に先立ち、ウリ科食性甲虫類の寄主適合性を明らかにするために、摂食試験および成育試験を行い、5種のウリ科食性甲虫類の寄主範囲を明らかにした。

ウリ科植物に含まれているククルビタシン類に対する摂食反応を調べ、トホシテントウ、ヒメクロウリハムシ、およびウリハムシがククルビタシン類に摂食を刺激されること、そしてジュウニマダラテントウおよびクロウリハムシはほとんどククルビタシン類に摂食を刺激されない事を明らかにした。この試験から、ウリ科食性甲虫類の中にククルビタシン類に摂食を刺激されない種が存在する事を見いだした。

ウリ科植物18種の葉に含まれるククルビタシン類の定量を行い、アレチウリ、ヒョウタン、マクワウリなど一部の植物だけにククルビタシン類が含まれていることを明らかにした。このことから、ククルビタシン類以外の摂食刺激物質がウリ科食性甲虫類の寄主選択に関与していることが示唆された。

ウリ科植物18種のメタノール抽出物に対する摂食反応を調べ、テントウおよびハムシに対し共力作用を示す複数の摂食刺激物質が存在する事を見いだした。

トホシテントウおよびクロウリハムシの寄主であるキカラスウリに含まれる摂食刺激物質を調べ、トホシテントウの摂食刺激物質はステロイド化合物、無機物、および糖類であることを明らかにした。そしてクロウリハムシはこれらに加え、ルテオリン-7-グルコシドが必要であることを見いだした。次にオキナワスズメウリに含まれるジュウニマダラテントウの摂食刺激物質は、パルミチン酸と糖類であることを明らかにした。このことは、ウリ科植物にククルビタシン類以外の摂食刺激物質が存在する事を初めて明らかにした知見である。

5種のウリ科食性甲虫類にほとんど摂食されないニガウリに含まれる摂食阻害物質は主にモモルデシンⅠおよびⅡであることを明らかにし、甲虫種によって感受性が異なる事を明らかにした。

以上のように、本研究はウリ科食性甲虫類の寄主選択に関わる化学物質を明らかにし、食植性昆虫の寄主選択機構について新知見を得たものであり、今後の寄主選択機構の研究の発展に貢献するものである。従って、審査員一同は、本論文の著者に対して、博士(農学)の学位を授与するに値するものと判断した。